Zur Differenzierung von Bacillus-Spezies aus Organproben von Wiederkäuern im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Karl Heinrich Heizer

1971

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546015_0066

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

Zur Differenzierung von Bacillus-Spezies aus Organproben von Wiederkäuern im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Karl Heinrich Heizer
aus
Erding

München 1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Prof. Dr. L. Kotter
Korreferent:	Prof. Dr. A. Mayr
Tag der Promotion:	5. Februar 1971

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A.	Einleitung	1
B.	Schrifttum	2
I.	Natürliches Vorkommen der aeroben Sporenbildner	2
II.	Aerobe Sporenbildner bei Mensch, Tier und tierischen Produkten	3
1.	Aerobe Sporenbildner bei Schlachttieren	3
2.	Bacillen in tierischen Produkten und ihre Wirkung	3
3.	Pathogenität der aeroben Sporenbildner	5
III.	Maßnahmen zur Vermeidung von Fehlfabrikaten und Erkrankungen durch das Genus Bacillus	8
IV.	Wachstumsbedingungen und Differenzierung der Bacillen	10
C.	Eigene Untersuchungen	13
I.	Herkunft der untersuchten Stämme	13
II.	Identifizierung	17
III.	Versuchsbeschreibung	17
1.	Mikroskopische Untersuchung	17
2.	Biochemische Untersuchungen	19
IV.	Ergebnisse	23
1.	Biochemische Differenzierungsergebnisse	23
2.	Verteilung der Bacillen auf die Tierarten	27
3.	Verteilung der Bacillusspezies unter Berücksichtigung des Vorberichtes bzw. des pathologisch-anatomischen Befundes	29
4.	Vergleichende Betrachtung bezüglich der Verteilung der Bacillusspezies beim Rindergeschlecht	33

Seite

D. Diskussion und Besprechung der Ergebnisse 35

E. Zusammenfassung 37

F. Literaturverzeichnis 39

A. EINLEITUNG

Die aeroben Sporenbildner fanden in der Bakteriologie lange Zeit nur wenig Beachtung, da sie, mit Ausnahme des Bacillus anthracis und des für Insekten pathogenen Bacillus thuringiensis, als apathogen für Mensch und Tier gehalten wurden. Erst in den letzten Jahrzehnten wurde ihnen mehr Aufmerksamkeit gewidmet, weil sie häufig als Ursache von Fehlfabrikaten der Fisch-, Fleisch- und Milchwirtschaft festgestellt wurden.

Bacillen sind aerobe, fakultativ anaerobe, gewöhnlich grampositive, meist saprophytäre, unbewegliche oder durch peritriche Begeißelung bewegliche, stäbchenförmige, sporenbildende Bakterien. Sie werden der Familie der Bacillaceae zugeordnet, zu der neben der Gattung Bacillus noch die Gattung Clostridium gehört.

B. SCHRIFTTUM

I. Natürliches Vorkommen der aeroben Sporenbildner

Nach Bergey (9) ist das Biotop fast aller aerober Sporenbildner die Erdoberfläche. Eine Ausnahme bildet der Bacillus (Bac.) thuringiensis, der aus kranken Insekten isoliert wurde und eventuell der Bac. badius, dessen Herkunft zwar ungewiß ist, der aber wahrscheinlich in verwesendem Material vorkommt. Daneben konnte der Bac. megaterium auch aus Wasser, Staub und verwesendem Material, der Bac. cereus aus Staub, Milch und Pflanzen, der Bac. licheniformis aus Nahrungsmitteln, der Bac. subtilis aus verwesendem anorganischen Material, der Bac. pumilus aus Staub und Käse, der Bac. coagulans aus verdorbenen Nahrungsmitteln (Creme, Käse) und Silage, der Bac. firmus aus verwesendem Material, der Bac. polymyxa aus Wasser, Milch, verwesendem Gemüse und Fäces, der Bac. macerans aus Wasser und verwesendem Material, der Bac. alvei in Bienenstöcken, der Bac. stearothermophilus aus verdorbenen Nahrungsmitteln (bes. Rohrzucker), der Bac. circulans und der Bac. laterosporus aus Wasser und Staub, der Bac. brevis aus Milch, Käse, Luft und Staub und der Bac. pasteurii aus Dünger und Kloakenwasser isoliert werden (9). Der Bac. cereus kommt zahlenmäßig am häufigsten von allen Arten im Boden vor (Bergey (8)). Auch Lehmann-Neumann (49) und Topley und Miles (101) beschreiben das Vorkommen aerober Sporenbildner im Erdboden. Flügge (80) und Housten (33) fanden den Bac. pumilus in der Erde, Ivanovics (37) isolierte hieraus den Bac. subtilis, den Bac. megaterium und den Bac. cereus. Boese (6) fand den Bac. pumilus in Kartoffel-, Roggen-, Rüben- und Bohnenäckern; Boese (6) und Wellhäuser (111) konnten ihn auch in Waldböden isolieren und Stregulina (99) wies ihn in Garten- und Weinberghumus, sowie an Steinen Züricher Weinberge nach. Lieske (52) und Hoffmann (32) entdeckten ihn sogar in Braunkohlen- und Steinkohlenlagerstätten. Der Bac. subtilis wurde häufig im Heu gefunden, in dem aber auch noch andere aerobe Sporenbildner vorkommen (Lehmann und Neumann (49)). Seligmann (92) stieß in Roggen- und Weizenproben auf den Bac. pumilus, ebenso Boese (6), der ihn aus Hafer und Dreschabfällen isolierte. Auch im Stroh wurden aerobe Sporenbildner gefunden und Hüttmann (35) isolierte sie auch von Pflanzen.

II. Aerobe Sporenbildner bei Mensch, Tier und tierischen Produkten

1. Aerobe Sporenbildner bei Schlachttieren

Im Kuhkot wurden von Breed, Murray und Hitchens (8), Ankersmit (1), Gruber (26), Fischer (28), Vogeler (103), Stregulina (99) und Ivanovics (37) aerobe Sporenbildner gefunden. Ankersmit (1) isolierte aus dem Pansen den Bac. cereus und die Varietät mycoides, den Bac. pumilus und andere Bodenbakterien. Gleiche Verhältnisse herrschten in Labmägen, Dünndärmen, Dickdärmen und Blinddärmen. Bierotte und Machida (5) fanden den Bac. pumilus, den Bac. subtilis und den Bac. cereus in normalen Organen von Rindern, Kälbern, Hammeln und Schweinen.

2. Bacillen in tierischen Produkten und ihre Wirkung

Für das Auftreten von aeroben Sporenbildnern in Fleisch von gesunden, völlig einwandfrei und hygienisch geschlachteten Tieren, das nach Grunt (27) Ostertag-Schönberg (67) und Kelch (40) als keimfrei anzusehen ist, gibt es folgende, verschiedene Theorien: Rugge und Kießig (75, 76), Conradi (16), Zwick und Weichel (117), Amako (2), Grunt (27) und Bierotte und Machida (5) vertreten die Ansicht, daß das Vorkommen von Keimen bei solchen Tieren durch eine Verunreinigung der Schlachtwunde verursacht wird und daß die Keime durch Druck, bzw. Sog mehr oder weniger tief in die Muskulatur gelangen. Rugge und Kießig (76) glauben jedoch nicht an eine intravitale "Einschwemmung". Bei Schweinen kommt es nach Schönberg (85), Walz (104) und Schauser (77) durch den relativ hohen Gehalt des Brühwassers an aeroben Sporenbildnern zu einer Infektion beim Brühen der Hautoberfläche dieser Tiere.

Kelch (41) fand den Bac. subtilis besonders häufig in Schweineschlachthallen, der vor allem von Holzgegenständen isoliert wurde, und erklärt damit das häufige Vorkommen dieser Keime in fleischverarbeitenden Betrieben (Schlachtstellen von Schweinen, Räume, in denen Schweineschinken verarbeitet und Gewürze abgewogen wurden, Wände, Fußböden, Transportkarren, Arbeitskleidung und Werkzeuge.

Wie bereits erwähnt, finden sich aerobe Sporenbildner im Verdauungstrakt der Schlachttiere. Deswegen kommen sie nach Rievel (72) auch in Schweine- und Rinderdärmen vor, die zur Verarbeitung gelangen. Westphal (113) fand bei

Untersuchungen von handelsüblichen Rinder- und Schweinedärmen sechs aerobe Bacillenstämme, die als Bac. subtilis (nebst Varianten), Bac. megaterium und als Bac. cereus var. mycoides identifiziert wurden.

Walz(108) spricht von einem normalen Auftreten aerober Sporenbildner in einwandfreien Rinder- und Schweinedärmen. Kelch (41) erwähnt die Verarbeitung stark keimhaltiger Wursthüllen bei der Herstellung von Brühwürsten, ebenso fand Rievel (72) die in Fleischwarenfabriken verwendeten Därme sporenhaltig. Viele Fleischprodukte werden auch durch Gewürze mit aeroben Sporenbildnern infiziert. Hüttmann (35) stellte fest, daß "Naturgewürze" besonders reich an aeroben Sporenbildnern sind. Als besonders bedeutsam für die Fleischwirtschaft haben sich nach Schönberg (83) folgende aerobe Sporenbildner erwiesen:

1. Bac. subtilis mit Varianten,
2. Bac. cereus var. mycoides,
3. Bac. cereus,
4. Bac. megaterium.

Die aeroben Sporenbildner gehören z.T. zu den aeroben Fäulniserregern. Sie bilden wirksame porteolytische Fermente und können Eiweiß, Kohlenhydrate und Fette zersetzen (Schönberg (83), Seidel (95), Breed, Murray und Hitchens (8), Boese (6), Rippel und Baldes (74), Walz (108), Gottschlich (25) und Horowitz-Wlassowa (34)). Ebenso können sie den roten Muskelfarbstoff auflösen und in Fleisch und Fleischwaren eine Porphyrinbildung hervorrufen.

Nach Ostertag und Schönberg (67) entstehen bei der Fleischfäulnis folgende Stoffe:

1. Gase (CO_2, CH_4, H_2, H_2S)
2. Fettsäuren (Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Baldriansäure, Palmitinsäure, Kapronsäure)
3. Oxy- und mehrbasische Säuren (Milchsäure, Bersteinsäure, Oxalsäure)
4. verschiedene andere Stoffe, wie Amine, Aminosäuren, Amide, Amidosäuren, Tyrosin, aromatische Säuren und Putrescine wie Indol und Skatol.

Nach Schönberg und Könekamp (90) kann es beim Abbau der Aminosäuren zur Bildung von Giftstoffen wie Muscarin, Neurin und Histamin kommen.

Sowohl wegen ihrer Resistenz gegen äußere Einflüsse als auch wegen ihrer fermentativen Eigenschaften sind die aeroben Sporenbildner häufig die Ursache von Fehlfabrikaten bei Fleischwaren. Oft treten solche durch Bacillen verursachte Fehlfabrikate bei Rohwürsten, Konserven, Halbkonserven, bei Würstchen, Brühwürsten und Kochwürsten auf. Über Fehlfabrikate bei Rohwürsten durch Bacillen der Subtilis-Gruppe, die der Wurst im Verlauf der Fäulnis einen unangenehmen, muffig, dumpfig bis stechend ammonikalischen Geruch verleihen berichten Schönberg (81, 82, 83, 84, 89), Keller (39), Coretti (17), Milbradt (58), Schilling (78) und Walz (105, 106, 107).

Zersetzungserscheinungen des Inhalts von Fleisch- oder Wurstkonserven ohne oder mit geringer Gasbildung durch Keime der Subtilis-Gruppe beschreiben Hauke (30), Bushnell (14), Wiidik (115), Cameron und Esty (15), Lerche (50), Sens und Kauker (93), Ostertag und Schönberg (67), Schönberg (83, 85, 87) und Kelch (42). Andere aerobe Sporenbildner rufen durch starke Gasbildung ein Verderben bei Lebensmittelkonserven hervor. Als solche wurden von Reese, Vaughn, Kreulevitch und Mercer (71) Bac. polymyxa und Bac. macerans, sowie deren nahe Verwandte (Zeller (116) erkannt. Kraus (45) fand als Ursache der Laketrübung und der leichten Zersetzung von Dosenwürstchen ohne Bombageerscheinung Bacillen der morphologischen Gruppe II. Summermatter (98) stellte eine Erweichung der Wursthüllen bei Bratwürsten in Dosen durch Bac. subtilis fest.

Bei Kochwürsten vor allem bei Rot- und Leberwürsten wurden von Schönberg (83), Schilling (78), Lerche, Goerttler und Rievel (51) Fehlfabrikate durch Fäulnis beschrieben. Schönberg (89) fand als Ursache der partiellen Erweichung von Dosenwürstchen ohne Bombageerscheinung Keime der Subtilis-Gruppe.

Nach Frank (21) verursachten bei erhöhten Temperaturen nur die beiden fakultativ anaeroben Arten, Bac. coagulans und Bac. stearothermophilus Lebensmittelverderbnis. Schönberg und Könekamp (90) entdeckten, daß der Fermentwirkungsbereich der aeroben Sporenbildner von nahe $0^{o}C$ bis $70^{o}C$ reichte.

3. Pathogenität der aeroben Sporenbildner

Erkrankungen durch aerobe Sporenbildner lassen sich nach Boese (6) aufgrund ihrer Krankheitsbilder, die sie beim Menschen verursachen, in drei Gruppen einteilen:

Erkrankungen des Magen-Darmtraktes,
Puerperalsepsis und andere Infektionen (ohne Magen-Darmkanal),
Augeninfektionen.

In der ersten Gruppe werden die Erkrankungen behandelt, die in der Literatur als "unspezifische" Lebensmittelvergiftungen bezeichnet werden. Im Schrifttum wird vor allem den Keimen der morphologischen Gruppe I eine toxische Wirkung zugeschrieben, die entweder auf Proteine oder deren Zersetzungsprodukte zurückgeführt wird, Schönberg und Könekamp (90) betonen, daß die hierfür infrage kommenden aeroben Sporenbildner an sich keine pathogene Wirkung beim Menschen haben, sondern daß ihre Pathogenität an folgende Voraussetzungen gebunden ist:

1. An die Eigenart des Bacillenstammes selbst; denn es konnte nachgewiesen werden, daß die Aktivität, besonders die Proteinasenbildung verschiedener, aus Lebensmitteln gezüchteter Stämme, unterschiedlich ist,

2. von der Vermehrungsgeschwindigkeit der betreffenden Bacillen; damit genügend Proteinasen den Abbau des Eiweißes bewirken können,

3. von einer gewissen Empfänglichkeit der betreffenden Menschen.

Schöneberg und Könekamp (90) vertreten die Meinung, daß für die Giftwirkung von mit Bac. cereus oder anderen aeroben Sporenbildnern infizierten Nahrungsmitteln nur die verursachte Proteolyse, nicht aber die Keimzahl (Nikodemusz und Csaba (64)) verantwortlich ist.

Bereits 1949 spricht Schilling (79) bei Lebensmittelvergiftungen durch aerobe Sporenbildner von einer Fäulnistoxikation, wobei er darunter sowohl bakterielle Eigentoxine der Fäulnisbakterien als auch Abbauprodukte, besonders Amine, versteht. Auch Burdon und Stokes (12) sind der Ansicht, daß Vergiftungen, die durch aerobe Sporenbildner, wie Bac. cereus und Vertreter der Subtilis-Arten, verursacht werden, Erkrankungen durch Fäulnistoxine sind. Ebenso spricht Markoff (57) bei Fischen von einer Fäulnis, hervorgerufen durch Bac. pumilus, Bac. subtilis und Bac. cereus, die das Eiweiß zu Amido-Verbindungen, Diaminen und Aminen abbauen. Lodenkämper (54), Flügge (20), Laffargue und Andrieu (47) sehen die Ursache von Vergiftungen ebenfalls in toxischen Abbauprodukten.

Erkrankungen des Magen-Darmtraktes

Aerobe Sporenbildner als Krankheitserreger sind schon lange bekannt. Flügge (20) hat schon im Jahre 1894 die Giftwirkung peptonisierender Bacillen aus der Subtilis-Gruppe beschrieben. Er konnte beim Verfüttern einer Reinkultur des Bac. pumilus in Milch bei verschiedenen Versuchstieren schwere Vergiftungen, bei jungen Hunden zuweilen tödlich endende Durchfälle hervorrufen. Nikodemusz und Gonda (65) fütterten Katzen mit Bac. cereus beimpften Lebensmitteln. Die Tiere reagierten mit anhaltendem Durchfall und Verminderung des Körpergewichts. Innerhalb von 2 bis 3 Wochen gingen 50 % der Tiere zugrunde.

Später wurde noch anderen aeroben Sporenbildnern die Fähigkeit, Fäulnisintoxikationen hervorzurufen, zugebilligt; nämlich den Vertretern der Subtilis-Gruppe, dem Bac. megaterium, dem Bac. cereus und der Varietät mycoides (Ostertag und Schönberg (67), Herter (31), Moser (59), Mumme (60) und dem Bac. firmus (Lubenau (55)). Seidel (95) berichtet über unspezifische Lebensmittelvergiftungen nach Verzehr verschiedener Speisen, infiziert mit Bac. pumilus und Bac. subtilis; Lubenau (55) über Massenvergiftungen durch Bac. firmus, Brekenfeld (10) über Vergiftungen durch Bac. subtilis und Hauge (31) über solche durch Bac. cereus. Nikodemusz und Csaba (64) isolierten bei Lebensmittelvergiftungen Bac. cereus, Bac. alvei und zu Bac. cereus gehörige Keime.

Nikodemusz und Bodnar (62) fanden aerobe Sporenbildner in fast allen Lebensmitteln. Gleichzeitig betonten sie, daß Krankheiten nur dann auftreten, wenn die Keime Gelegenheit zur Vermehrung haben. 1963 wiesen Nikodemusz und Mitarbeiter (63) den Bac. cereus in ca. 6 % aller untersuchten Lebensmittelproben nach. Die Keimzahl lag bei 50 % der positiven Proben unter 10^3 / g.

Als Symptome für unspezifische Lebensmittelvergiftungen konnte Seidel (95) bei verschiedenen Personen Übelkeit, Schweißausbrauch, Erbrechen, Magenbeschwerden, Darmkrämpfe, Durchfall und Brechdurchfall feststellen. Nikodemusz und Csaba (64) beobachteten Abdominalschmerzen und wäßrige Durchfälle. Baumgart (3) berichtet von Durchfällen, Leibschmerzen und Benommenheit.

Puerperalsepsis und andere Infektionen (ohne Magen-Darmkanal)

Als Ursache einer Puerperalsepsis konnte von van de Velde (102) und Werner und Zubszycki (112) der Bac. pumilus nachgewiesen werden. Boyette, Rights und Keiters (7) fanden als Ursache einer Meningitis bei einem Kind aerobe Sporenbildner. Terplan (100) beschrieb eine Mastitis bei einer Kuh, hervorgerufen durch Bac. cereus.

Larár und Jurcsák (48) züchteten aus einer Oto-Antritis eines Säuglings und aus dem Antrumausfluß bei einer chronischen Mittelohrentzündung den Bac. cereus. Dabei erwies sich dieser Vertreter empfindlich gegenüber Chlorocid, Terramycin, Tetracyclin, Neomycin und Erythromycin. Resistent war er gegenüber Penicillin, Streptomycin, Polymyxin B, Salvoseptyl und Superseptyl.

Augeninfektionen

Augenentzündungen durch aerobe Sporenbildner werden in der Literatur schon früh angeführt. Bac. subtilis konnte vor allem bei Panophthalmien (Stregulina (99), Kayser (38) und Bac. mesentericus, bzw. Bac. subtilis bei akutem Bindehautkatarrh (Makai (56)) nachgewiesen werden.

Oesterle (68) berichtet von zwei Fällen einer postoperativen Endophthalmie bei Cataracta traumatica, hervorgerufen durch Bac. sphaericus.

III. Maßnahmen zur Vermeidung von Fehlfabrikaten und Erkrankungen durch das Genus Bacillus

Die Maßnahmen zur Vermeidung von Erkrankungen und Fehlfabrikaten müssen sich auf die Abtötung der Sporen und auf die Verhinderung des Wachstums bzw. der Vermehrung der aeroben Sporenbildner konzentrieren. Unter Bacillensporen versteht man morphologisch definierte Gebilde, die allgemein eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen schädigende äußere Einflüsse besitzen als die vegetativen Formen derselben Art (Preuner und Mitarbeiter (68)).

Walz (108) stellte fest, daß das Wachstum der aeroben Sporenbildner von folgenden Faktoren abhängig ist:

1. vom Säuregrad (p_H),
2. von der Temperatur,
3. vom Kochsalzgehalt.

Bei seinen Versuchen konnte er bei p_H 4,5 und darunter kein Wachstum feststellen. Bei p_H 5,0 und darüber war Wachstum zu beobachten, wobei jedoch die Höhe und Dauer der einwirkenden Temperatur und auch die Keimart Einfluß auf das Wachstum hatten. So ermittelte er, daß bei einer Temperatur von 12 - 15°C trotz eines p_H 5,5 kein Wachstum auftrat. Weiter wurde das Wachstum stark gehemmt, als er 3,2 % Kochsalz bei p_H 5,5 und einer Bebrütungstemperatur von 37°C zusetzte. Diese hemmende Wirkung konnte auch durch niedrige Temperaturen unterstützt werden.

Daß der Säuregrad für die Vermehrung von aeroben Sporenbildnern in Nahrungsmitteln von großer Bedeutung ist, entdeckte bereits Seligmann (92). Er berichtet über die Empfindlichkeit des Bac. pumilus, Boese (6) über eine völlige Wachstumshemmung bei p_H 4,0 - 4,8 und Lochmann (53) über eine totale Hemmung der Subtilis-Gruppe bei p_H 4,6.

Den Einfluß des Kochsalzes auf das Wachstum schildern Knight und Proom (42). Ihre Untersuchung machte klar, daß alle Bacillen der morphologischen Gruppe 1 und 2, sowie fast alle Arten der Gruppe 3 durch 4 % Kochsalz nicht gehemmt werden. Schönberg und Walz (91) fanden bei Vertretern der Subtilis-Gruppe unter Optimaltemperatur Wachstum bei 10 % Kochsalzgehalt, keines aber bei 15 %. Bei einer Temperatur von 12 - 14° in Gegenwart von 3 % Kochsalz wurde das Wachstum fast ganz unterdrückt.

Besonders hitzebeständig und resistent gegenüber Desinfektionsmitteln sind die Dauerformen der aeroben Sporenbildner, die Sporen. Wiidik (115) konnte bei Abtötungsversuchen an 34 Stämmen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe feststellen, daß sechs Stämme 120°C bei 1 atü für sieben Minuten überstanden. Nach Globig (23) halten Sporen des Bac. pumilus 100°C zwei bis sechs Stunden aus, 122°C zehn Minuten. Sofort abgetötet werden die Sporen bei 130°C.

Erdsporen werden nach Konrich (43) bei 120°C innerhalb von sechs Minuten abgetötet.

Bei den für die Lebensmittelbakteriologie wichtigen Vertretern der aeroben Sporenbildner stellte Gruber (26) eine starke Einwirkung auf die Proteolyse der Keime bei einer Temperatur von 110°C für 40 sec. fest, die bei 48stündiger Bebrütung nachläßt. Bei 120°C für 40 sec. trat nur noch eine ganz feine gallertartige Gerinnung auf.

Am meisten hitzeresistent erwies sich die Cereus-Gruppe. Nach Reploh und Otte (70) ist eine zuverlässige Abtötung nur im Autoklaven möglich. Aus-

trocknung, hoher Druck und Auskühlung bleiben ohne Wirkung, ebenso wie verschiedene chemische Desinfektionsmittel.

Fievéz (19) und Brozat (11) beschreiben die Möglichkeit der Sporenabtötung durch UV-Bestrahlung in Kombination mit einer Desinfektion. Schönberg (83, 85) empfiehlt als Desinfektionsmittel quartäre Ammoniumverbindungen, Ampholytseifen oder Hypochlorite mit anschließender gezielter Bestrahlung durch UV-Entkeimungslampen (im Abstand von 0,5 - 1 m für eine Stunde). Die angeführten Autoren erzielten einen Erfolg von 99,9 %. Wie Hadlok (28) bei seinen Versuchen herausfand, werden die Sporen aerober Sporenbildner sicher bei einer Temperatur von 106°C für 5 Min. oder 115°C für 55 Min. abgetötet.

IV. Wachstumsbedingungen und Differenzierung der Bacillen

1. Wachstumsbedingungen

Knight und Proom (42) befaßten sich mit den Ernährungsansprüchen der mesophilen Arten der aeroben Sporenbildner. Sie fanden heraus, daß Bac. subtilis, Bac. licheniformis und Bac. megaterium mit Ammoniak als Stickstoffquelle und ohne Wachstumsfaktoren, Bac. cereus und Bac. brevis mit Aminosäuren-Mischungen als Stickstoffquelle und ebenfalls ohne Wachstumsfaktoren, Bac. pumilus und Bac. polymyxa mit Ammoniak und Biotin, Bac. macerans mit Ammoniak, Biotin und Aneurin, Bac. alvei mit Aminosäuren und Aneurin, Bac. circulans, Bac. coagulans und Bac. sphaericus mit Aminosäuren, Aneurin und Biotin wuchsen. Bac. pasteurii-Arten benötigten zum Wachstum einen Zusatz von Ammonium-Ionen, Aminosäuren, Aneurin, Biotin und Nikotinsäure; Bac. pantothenticus brauchte nach Proom und Knight (69) Pantothensäure.

Die optimale Wachstumstemperatur liegt für viele Bacillus-Arten zwischen 28 und 35, bzw. 40°C (Bergey (9)), für Bac. cereus, Bac. alvei und Bac. circulans liegt sie über 30°C, für Bac. coagulans zwischen 33 und 45°C, für Bac. pantothenticus zwischen 33 und 40°C, für Bac. badius zwischen 35 und 40°C, für Bac. pulvifaciens über 37°C, für Bac. stearothermophilus zwischen 50 und 65°C und für Bac. cereus var. mycoides bei 28°C.

2. Differenzierung

Ein wichtiges Mittel zur Differenzierung ist die mikroskopische Untersuchung und die Einteilung des Genus Bacillus nach der Größe des Sporangiums, deren Vakuolisierung, der möglichen Auftreibung durch die Endosporen, nach der Form der Sporen und der Dicke der Sporenwand (Bergey (9), Smith et al (97), Knight und Proom (42), Iyer und Bhat (36), Seidel (94), Kundrat (46). Smith et al (97), Breed, Murray und Smith (9), Iyer und Bhat (36) und Knight und Proom (42) beschreiben die Art und Größe der Kolonien auf Nähragar und das Wachstum in anderen Nährböden. Sie betonen aber, daß diese Merkmale nur für geübte Beobachter von Wert sind.

Shukla und Iyer (96) heben die Hauchbildung von Bac. alvei und Bac. circulans auf Agarnährböden hervor.

Für die weitere Bestimmung haben sich vor allem biochemische Teste als brauchbar erwiesen. Insbesondere prüfte man die Spaltung von Stärke, Gelatine, Kasein, Lezithin und Harnstoff, die Bildung von Acetylmethylcarbinol, die anaerobe Gasbildung als Nitrat, die Zitratvergärung, die Nitratreduktion, das anaerobe Wachstum in Glukosebouillon, das Wachstum bei p_H 6,0. Die Säurebildung aus Glukose, Maltose, Mannit, Salizin, Arabinose, Fruktose und Xylose (Smith et al (97), Knight und Proom (42), Iyer und Bhat (36), Bergey (9), Berger (4), Shukla und Iyer (96) und Kundrat (48); die Bildung von kristallinem Dextrin (Bergey (9), Smith et al (97), Kundrat (46); die Indolbildung (Bergey (9), Smith et al (97), Shukla und Iyer (96), Kundrat (46); das Wachstum in Anwesenheit von 7 und 10 % NaCl (Bergey (9), Kundrat (46), Gordon und Smith (24); die Gasbildung aus Glukose (Berger (4), Bergey (9), Kundrat (46); das Wachstum bei 56 und 65°C (Bergey (9), Burdon und Stokes (12) Kundrat (46); die Reduktion von Methylenblau (Shukla und Iyer (96), Smith et al (97); und die Reaktion in Milch Bergey (9), Burdon (13); Kundrat (46) fügte diesen Testen die Prüfung auf Argininhydrolyse und die Hemmung durch Sulfanilamid hinzu. Nikodemusz (61) berichtet von einem Nährboden, der die Direktisolierung von Bac. cereus erlaubt.

Aufgrund des weitgehend ähnlichen biochemischen Verhaltens lassen sich die aeroben Sporenbildner in Gruppen einteilen:

	Gruppe:
Bac. cereus Bac. cereus var. mycoides Bac. anthracis Bac. thuringiensis	cereus
Bac. megaterium Bac. subtilis Bac. licheniformis Bac. pumilus	subtilis
Bac. polymyxa Bac. macerans Bac. circulans Bac. coagulans	polymyxa
Bac. alvei Bac. laterosporus Bac. brevis	alvei
Bac. stearothermophilus Bac. pulvifaciens	stearothermophilus
Bac. sphaericus	sphaericus
Bac. firmus Bac. lentus	firmus
Bac. pasteurii Bac. larvae	larvae

(hierzu Bac. pantothenticus, entfernt verwandt)

Alleinstehend ist der Bac. badius.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung sollte die Spezies Bacillus eingehend differenziert werden.

I. Herkunft der untersuchten Stämme

Für die Untersuchungen wurden 146 Bacillusstämme, die von der Bakteriologischen Fleischuntersuchungsstelle am Städt. Schlachthof München zur Verfügung gestellt wurden, und 20 Kontrollstämme aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Universität München, verwendet.

Alle 146 Proben stammten ausschließlich von geschlachteten Tieren, die nach §§ 27 (1) der AB. A einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen werden mußten. Dabei wurden alle, dem Wachstum nach als aerobe Sporenbildner verdächtige Kolonien auf allen bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung routinemäßig angelegten Agar-Platten, ohne Rücksicht auf die Vielzahl der zur Untersuchung verwendeten Organproben ausgewählt.

Außerdem wurden aus den Lebern einzelner Tiere Ausstriche auf 10 ml Traubenzuckeragar, bestehend aus

Fleischextrakt	0,5 %
NaCl	0,5 %
Traubenzucker	2,0 %
entmineralisiertes Wasser auf	100 %
pH	7,0

angelegt, für 10 Min. bei 80°C im Wasserbad gehalten, anschließend in sterile Petrischalen ausgegossen und 3 Tage im Brutschrank bei 32°C bebrütet.

Eine Auswahl nach besonderen Gesichtspunkten wurde bei der Entnahme der Proben nicht getroffen. Dabei ergab sich, daß von

Rindern	86 Proben
Kälbern	37 Proben
Bullen	23 Proben

stammten. Die bei der Fleischbeschau dieser Tiere erhobenen Befunde wurden in den folgenden Tabellen zusammengefaßt.

Tabelle 1:

Übersicht und Zusammenfassung der bei der Fleischbeschau erhobenen Befunde

Tierart	Anamnese bzw. patholog. anatom. Veränderungen von	Anzahl der Fälle	davon	Fälle
Rind	Lunge/Herz	6	Lungenödem	2
			Lungenemphysem	2
			Myocarditis	1
			Pneumonie	1
	Leber/Niere/Milz	14	Leberdegeneration	6
			Leberabszeß	3
			Lebertumor	1
			Hepatitis	2
			Nephritis	1
			Pyelonephritis	1
			Milzabszeß	1
	Magen/Darm	19	Enteritis	11
			Darmvagination	1
			Tympanie	7
	Gebärmutter	12	Pyometra	3
			Metritis	1
			Torsio	1
			Geburtsverletzung	4
			Wasserkalb	1
			Eihautwassersucht	1
			emphysemat. Frucht	1
	Festliegen	17	Festliegen	17
	Knochen/Muskulatur	10	Fraktur	9
			Muskeldegeneration	1
	Klaue/Euter	5	Klauengeschwür	2
			Mastitis	3
	Notschlachtung o.B.	3		

Fortsetzung der Tabelle 1:

Tierart	Anamnese bzw. patholog. anatom. Veränderungen von	Anzahl der Fälle	davon	Fälle
Kalb	Leber/Nabel	7	Leberdegeneration	4
			Leberabszeß	1
			Nabelentzündung	2
	Magen/Darm	17	Enteritis	10
			Tympanie	7
	Lunge/Niere	6	Pneumonie	6
			Lungenödem	1
			Fleckniere	2
	Gelenk	4	Arthritis	4
	Festliegen	1	Festliegen	1
	Notschlachtung o. B.	1		
Bulle	Magen/Darm	13	Enteritis	1
			Tympanie	10
			Pansenlähmung	2
	Bauchfell	4	Peritonitis	2
			FK-Peritonitis	2
	Lunge/Leber	2	Pneumonie	1
			Fettleber	1
	Sehnenscheide/ Gelenk/Knochen	4	Arthritis	1
			Rachitis	2

Kontrollstämme:

Nr.	Herkunft	Bacillus
1	ATCC 10778	megaterium
2	eigener Bestand	cereus
3	ATCC 10792	thuringiensis
4	ATCC 8347	firmus
5	ATCC 10841	lentus
6	ATCC 10401	polymyxa
7	ATCC 245	pasteurii
8	ATCC 9966	circulans
9	ATCC 6457	laterosporus
10	ATCC 10068	brevis
11	ATCC 6344	alvei
12	ATCC 7060	subtilis
13	ATCC 7050	coagulans
14	ATCC 10545	coagulans
15	ATCC 14574	badius
16	eigener Bestand	licheniformis
17	ATCC 9372	subtilis
18	eigener Bestand	pumilus
19	eigener Bestand	subtilis
20	eigener Bestand	megaterium

Vor einer weiteren Verwendung wurden sowohl die dem Wachstum nach als aerobe Sporenbildner verdächtigen Kolonien als auch die auf dem Traubenzuckeragar gewachsenen Kolonien einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen, um Nichtsporenbildner auszuschließen. Dabei wurde die Sporenfärbung nach Wirtz (114) in der Modifikation nach Bartholomew und Mittwer verwendet. Anschließend wurden die als Sporenbildner anerkannten Keime zur Aufbewahrung auf Schrägagar in Röhrchen (MERCK-I-Nähragar) überimpft und 24 Stunden bei 32°C bebrütet.

II. Identifizierung

Die Differenzierung der einzelnen Spezies erfolgte nach dem von Kundrat (46) angegebenen Differenzierungsschlüssel.

Differenzierungstabelle

siehe nächste Seite!

Zeichenerklärung:

+	immer positiv	.	sehr schwach positiv
-	immer negativ	±	überwiegend positiv
∓	selten positiv	∓	überwiegend negativ
±	selten negativ	v	verschieden

III. Versuchsbeschreibung

1. Mikroskopische Untersuchung

Mikroskopische Ausstrichpräparate mit der Sporenfärbung nach Wirtz (114) in der Modifikation nach Bartholomew und Mittwer wurden wie folgt angefertigt:

a) Ausstrich 20 mal durch die Flamme ziehen,
b) 10 Min. mit gesättigter (7,5 %iger) Malachitgrünlösung färben,
c) 10 Sek. mit kaltem Wasser waschen,
d) 15 Sek. mit 0,25 %iger Safraninlösung gegenfärben,
e) waschen und trocknen.

Bacillus-	Morphologische Gruppe	Hydrolyse von: Gelatine	Stärke	Kasein	Arginin	Wachstum bei: 7 % NaCl	10 % NaCl	Zitratvergärung	Anaer. Wachstum in Glukose	Gas aus Glukose	Voges-Proskauer	Hemmung durch Sulfanilamid	Wachstum bei: 56°C	65°C
megaterium -		+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
cereus	Ia	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
cereus var. mycoides		+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
thuringiensis		+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
licheniformis -		+	+	+	+	+	+	+	+	.	+	-	+	-
subtilis		+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
subtilis var. aterrimus		+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
subtilis var. niger		+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
pumilus	Ib	+	-	+	-	+	v	+	-	-	+	-	-	-
coagulans		-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
badius		+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
firmus		+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
lentus		-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
polymyxa		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
macerans		+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
alvei		+	+	+	-	-	-	-	+	.	+	+	-	-
stearothermophilus	II	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
circulans		+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	v	-
laterosporus		+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
pulvifaciens		+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
brevis		+	-	+	+	-	-	v	-	-	-	-	v	-
pantothenticus		+	+	+	+	+	+	v	.	-	-	-	-	-
sphaericus	III	+	-	v	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
pasteurii		+	-	-	+	+	+	-	.	-	-	-	-	-

Beurteilt wurde die Größe des Sporangiums, die Auftreibung der Zelle durch die Spore, die Vakuolisierung des Sporangiums, die Form der Spore und die Dicke der Sporenwand. Aufgrund dieser Beurteilung wurde dann nach Bergey (9) folgende Einteilung in 3 Gruppen vorgenommen:

Gruppe I. Sporangium nicht aufgetrieben, Endospore oval oder zylindrisch, Sporenwand dünn
- a. Sporangien über 0,9 µ, vakuoliert
- b. Sporangien unter 0,9 µ, nicht vakuoliert

Gruppe II. Sporangien aufgetrieben, Sporen meist oval, Sporenwand dick

Gruppe III. Sporangien aufgetrieben, Sporen rund

Konnte nicht entschieden werden, ob das Sporangium aufgetrieben oder nicht aufgetrieben war, so wurde eine alte Kultur, die nur noch Sporen enthielt und eine junge, die sich praktisch nur im vegetativen Stadium befand, zusammengemischt und mikroskopiert (Kundrat (46).

2. Biochemische Untersuchungen

Nach der von Kundrat (46) angegebenen Differenzierungstabelle sind zur Unterscheidung der Spezies für die jeweilige Gruppe folgende Versuche notwendig:

Gruppe 1a Hydrolyse von Arginin, Reaktion nach Voges-Proskauer, Zitratvergärung, anaerobes Wachstum in Glukose, Wachstum bei 7 und 10 % NaCl;

Gruppe 1b Hydrolyse von Arginin, Stärke und Gelatine, Zitratvergärung, anaerobes Wachstum in Glukose, Wachstum bei 56°C;

Gruppe 2 Hydrolyse von Arginin und Stärke, Reaktion nach Voges-Proskauer, Gasbildung und anaerobes Wachstum in Glukose. Wachstum bei 7 % NaCl und bei 65°C. Hemmung durch Sulfanilamide;

Gruppe 3 Hydrolyse von Stärke und Arginin.

Für alle folgenden Versuche wurde wegen der verschiedenen Optimaltemperaturen eine Bebrütung bei 32°C gewählt.

a) Hydrolyse von Kasein

MERCK-Standard II Nähragar (25 g/l aqua dest.) wurde nach dem Autoklavieren mit 3 % steriler Magermilch versetzt, in Petrischalen gegossen und im Strich beimpft. Nach 48-stündiger Bebrütung der Schalen wurden die Kulturen mit Lugol'scher Lösung überschichtet, um die Hydrolyse sichtbar zu machen. Aufgehellte Zonen um die Kulturen gelten als positiv.

b) Hydrolyse von Stärke

MERCK-Standard II Nähragar 25 g/l aqua dest.) wurde mit 0,5 % löslicher Stärke versetzt, im Dampftopf gelöst, anschließend 15 Min. bei 121°C und 1,1 atü autoklaviert und in sterile Petrischalen gegossen. Die Beimpfung erfolgte als Ausstrich, bebrütet wurde wie unter a) angegeben.

c) Hydrolyse von Gelatine

Zu MERCK-Standard II Nähragar 25 g/l aqua dest.) wurden 0,4 % Gelatine gegeben, im Dampftopf gelöst, autoklaviert, dann in Petrischalen gegossen und wie bei a) und b) beimpft und bebrütet. Nach zwei Tagen wurden die Kulturen mit einer Lösung aus

15 g	$HgCl_2$
20 ml	konz. HCl
100 ml	aqua dest.

überschichtet. In nicht hydrolysierter Gelatine trat weißes Präzipitat auf, um positive Kolonien herum jedoch nicht.

d) Hydrolyse von Arginin

Die Prüfung auf Arginase erfolgte in der von Kundrat (46) entwickelten Bouillon folgender Zusammensetzung:

Argininhydrochlorid	0,3 %
NaCl	0,2 %
$MgSO_4$	0,01 %
dest. H_2O auf	100,0 %

Diese Substanzen wurden im Dampftopf gelöst, filtriert, der p_H-Wert mittels Indikatorpapier auf 7,0 eingestellt, je 3 ml dieser Lösung in sterile Röhrchen gefüllt und 15 Min. bei 121°C autoklaviert. Nach Beimpfung mit einer Öse Kultur wurden die Röhrchen 5 Tage bei 32°C bebrütet. Zur Auswertung wurde dann je ein Tropfen Kultur mit einem Tropfen Neßlers' Reagenz auf einem Filterpapier zusammengebracht und ein gelboranger Niederschlag als positiv bewertet.

e) Wachstum in Anwesenheit von 7 bzw. 10 % NaCl

Das Wachstum bei 7 und 10 % NaCl wurde in MERCK-Standard II-Bouillon die jeweils 7 oder 10 % NaCl enthielt, geprüft. 7 ml der jeweiligen Bouillon wurden in sterile Röhrchen gefüllt und autoklaviert. Nach Beimpfung mit einer Öse der jeweiligen Reinkultur wurden die Röhrchen 7 Tage bei 32°C bebrütet. Bei positiver Reaktion trat eine deutliche Trübung der Bouillon ein. Bei zweifelhaften Röhrchen wurde 1 ml 3 %iges H_2O_2 zugegeben und ein Aufschäumen als positiv bewertet.

f) Zitrat als einzige C-Quelle

Es wurde Zitrat-Agar nach Simmons (Difco), der als Grundsubstanz Kosers Salzlösung enthielt, mit folgender Zusammensetzung verwendet:

$MgSO_4$	0,2	g
Monoammoniumphosphat	1,0	g
Dikaliumphosphat	1,0	g
Natriumzitrat	2,0	g
Natriumchlorid	5,0	g
Agar	15,0	g
Bromthymolblau	0,08	g
Aqua dest. auf	100	ml

Der Nährboden wurde im Dampftopf gelöst, filtriert, der p_H-Wert auf 7,0 eingestellt, zu 5 ml in sterile Röhrchen gefüllt, autoklaviert und anschließend schräg gelegt. Nach zwei Tagen erfolgte die Beimpfung der Kulturen. Ausge-

wertet wurde nach dreitägiger Bebrütung bei 32°C, wobei ein Farbumschlag nach blau als positiv bewertet wurde.

g) Anaerobes Wachstum und Gasbildung aus Glukose

Zur Prüfung der Gasbildung aus Glukose gibt man in normale Reagenzröhrchen kleine Durham-Röhrchen mit der Öffnung nach unten und sterilisiert sie 20 Min. im Autoklaven. In jedes dieser Röhrchen wird nun 10 ml der Bouillon nach Gibson und Abd-el-Malek (22) gegeben. Diese Bouillon besteht aus:

Trypton	1,0 %
Glukose	1,0 %
K_2HPO_4	0,5 %
Liebig's Fleischextrakt	0,3 %
Hefeextrakt	0,2 %
$NaNO_3$	1,0 %
entmineralisiertes Wasser auf	100 %
p_H	7,6

Die Sterilisation des Nährbodens erfolgte wie unter f) angegeben. Ausgewertet wurde nach 1-, 3- und 6tägiger Bebrütung bei 32°C. Bei Gasbildung sammelt sich in den Durhamröhrchen Gas an. Anaerobes Wachstum kann am Boden der Bouillon sichtbar werden.

h) Bildung von Acetylmethylcarbinol

Die Acetoinbestimmung erfolgte im Nährboden nach Smith, Gordon und Clark (97), der sich wie folgt zusammensetzt:

Pepton	0,7 %
Glukose	0,5 %
NaCl	0,5 %
entmineralisiertes Wasser auf	100

Diese Substanzen werden gelöst, filtriert und auf ein p_H 7,2 mittels Indikatorpapier eingestellt. 3 ml dieser Bouillon werden in sterile Röhrchen gefüllt, autoklaviert und nach Beimpfen mit einer Öse Kultur 5 Tage lang bebrütet. Die Auswertung wurde auf einer Tüpfelplatte vorgenommen. Gleiche Mengen Kulturflüssigkeit und 35 %ige KOH-Lösung wurden mit einer Spur Kreatin vermischt. Bei positiver Reaktion erschien nach 30 bis 60 Min. eine Rotfärbung.

i) Hemmung durch Sulfanilamide

Eine Öse der jeweiligen Kulturen wurde in 2 ml MERCK Standard-II-Bouillon verimpft. Diese Bouillon wurde dann zu 10 ml MERCK-Standard II Nähragar, der bis auf ca. 45°C abgekühlt worden war, gegeben, gut vermischt und in Petrischalen gegossen. In jeder Platte wurden vier Glasringe (10 mm Außen-, 7 mm Innendurchmesser, 5 mm Höhe) aufgesetzt, die mit einer Sulfanilamid-Lösung in einer Konzentration von 50 Gamma gefüllt wurden. Für 24 Std. kamen die Platten in den Kühlschrank (bessere Diffusion) und wurden dann zwei Tage bei 37°C bebrütet. Bei positiver Reaktion traten Hemmhöfe auf. Als Sulfanilamid fand das Präparat Debenal der Firma Bayer, Leverkusen, Verwendung. Da es nur in Tablettenform vorlag, mußte es erst gelöst werden, um die notwendige Konzentration zu erhalten.

j) Die Prüfung auf ein Wachstum bei 56 und 65°C wurde nicht durchgeführt, dafür aber wurde zusätzlich das Verhalten in Lackmusmilch untersucht.

Frische Magermilch wurde mit 7 % Lackmustinktur versetzt und im Dampftopf erhitzt. Nach dem Abfüllen von je 10 ml in sterile Röhrchen wurden die Röhrchen an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils eine Stunde tyndallisiert und danach zur Sterilitätskontrolle, 2 - 3 Tage unbeimpft bei 37°C im Brutschrank bebrütet. Dann erst erfolgte die Beimpfung und Bebrütung für 10 Tage im Brutschrank bei 32°C.

IV. Ergebnisse:

1. Biochemische Differenzierungsergebnisse

Die vorher beschriebenen Versuche wurden mit allen Stämmen durchgeführt und nach der Differenzierungstabelle ausgewertet. Von den 146 Stämmen entfielen auf:

Bac. cereus	7	(4,79 %)
Bac. cereus var. mycoides	13	(8,90 %)
Bac. thuringiensis	17	(11,65 %)
Bac. licheniformis	14	(9,59 %)
Bac. subtilis	17	(11,65 %)

Bac. pumilus	6	(4,11 %)
Bac. coagulans	5	(3,42 %)
Bac. badius	11	(7,54 %)
Bac. firmus	6	(4,11 %)
Bac. lentus	2	(1,37 %)
Bac. polymyxa	2	(1,37 %)
Bac. circulans	4	(2,74 %)
Bac. laterosporus	3	(2,06 %)
Bac. pulvifaciens	2	(1,37 %)
Bac. brevis	1	(0,68 %)
Bac. panthothenticus	13	(8,90 %)
Bac. sphaericus	10	(6,85 %)
Bac. pasteurii	13	(8,90 %)

Von den 20 Kontrollstämmen wurden 3 als Bac. subtilis, 2 als Bac. coagulans und als Bac. megaterium, je ein Stamm als Bac. cereus, Bac. thuringiensis, Bac. firmus, Bac. lentus, Bac. polymyxa, Bac. pasteurii, Bac. circulans, Bac. laterosporus, Bac. brevis, Bac. alvei, Bac. badius, Bac. licheniformis und Bac. pumilus übernommen.

Differenzierungstabellen siehe Seite 25 und 26.

Entgegen der auf Seite 18 angeführten Differenzierungstabelle hydrolysieren alle nachgewiesenen Subtilis-Stämme Arginin. Aufgrund der Übereinstimmung mit den Kontrollstämmen wurden sie als solche angesprochen.

Zeichenerklärung für das Verhalten in Lackmusmilch:

P	=	stürmische Peptonisation
p	=	schwache Peptonisation
G	=	stürmische Gerinnung
g	=	schwache Gerinnung
R	=	starke Reduktion
r	=	schwache Reduktion
S	=	starke Säuerung
s	=	schwache Säuerung
o	=	Gasbildung
-	=	keine Reaktion

Zusammenfassung der Differenzierungsergebnisse

ERGEBNIS			VERSUCHSREIHE											
Anzahl der Stämme	Bacillus-	Morphologische Gruppe	Hydrolyse von: Gelatine	Stärke	Kasein	Arginin	Wachstum bei: 7 % NaCl	10 % NaCl	Zitratvergärung	Anaer. Wachstum in Glukose	Gas aus Glukose	Voges-Proskauer	Hemmung durch Sulfanilamid	Verhalten in Lackmusmilch
7	cereus		+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	PR
13	cereus var. mycoides	Ia	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	PR
17	thuringiensis		+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	P
14	licheniformis		+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	GRo
17	subtilis		+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	PR
6	pumilus		+	-	+	-	+	v	+	-	-	+	-	Gp
5	coagulans	Ib	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	Gs
11	badius		+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	P
6	firmus		+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
2	lentus		-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	a
2	polymyxa		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	GRo
4	circulans		+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	S
3	laterosporus	II	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	GP
2	pulvifaciens		+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	P
1	brevis		+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	P
13	pantothenticus		+	+	+	+	+	+	v	-	-	-	-	P
10	sphaericus	III	+	-	v	-	+	+	-	-	-	-	-	-
13	pasteurii		+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	pR

Kontrollstämme

Stamm Nr.	ERGEBNIS Bacillus-	Morphologische Gruppe	Hydrolyse von: Gelatine	Stärke	Kasein	VERSUCHSREIHE Arginin	Wachstum bei: 7 % NaCl	10 % NaCl	Zitratvergärung	Anaer. Wachstum in Glukose	Gas aus Glukose	Voges-Proskauer	Hemmung durch Sulfonamid	Verhalten in Lackmusmilch
1	megaterium	Ia	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	Pg
2	cereus	Ia	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	PR
3	thuringiensis	Ia	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	P
4	firmus	Ib	±	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
5	lentus	Ib	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	a
6	polymyxa	II	±	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	GRo
7	pasteurii	III	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	pR
8	circulans	II	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	S
9	laterosporus	II	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	GP
10	brevis	II	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	P
11	alvei	II	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	P
12	subtilis	Ib	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	PR
13	coagulans	Ib	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Gs
14	coagulans	Ib	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	Gs
15	badius	Ib	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	P
16	licheniformis	Ib	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	GRo
17	subtilis	Ib	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	PR
18	pumilus	Ib	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	Gp
19	subtilis	Ib	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	PR
20	megaterium	Ia	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	Pg

2. Verteilung der Bacillen auf die Tierarten

Auf die einzelnen Tierarten verteilte sich die Bacillus-Spezies wie folgt: In Klammern (prozentualer Anteil an der Gesamtzahl der jeweiligen Tierart)

Rind:

Von den 86 differenzierten Bacillusstämmen beim Rind entfielen 10 (11,6 %) auf Bac. thuringiensis, 10 (11,6 %) auf Bac. pasteurii, 9 (10,4 %) auf Bac. pantothenticus, 7 (8,1 %) auf Bac. licheniformis, 7 (8,1 %) auf Bac. sphaericus, 7 (8.1 %) auf Bac. subtilis, 6 (7,0 %) auf Bac. cereus var. mycoides, 5 (5,8 %) auf Bac. cereus, 5 (5,8 %) auf Bac. badius, 4 (4,6 %) auf Bac. pumilus, 4 (4,6 %) auf Bac. firmus, 3 (3,5 %) auf Bac. coagulans, 3 (3,5 %) auf Bac. laterosporus, 2 (2,3 %) auf Bac. polymyxa, 2 (2,3 %) auf Bac. circulans, 1 (1,2 %) auf Bac. pulvifaciens und 1 (1,2 %) auf Bac. lentus.

Kalb:

Von den 37 differenzierten Bacillusstämmen beim Kalb entfielen 6 (15,2 %) auf Bac. subtilis, 5 (13,9 %) auf Bac. thuringiensis, 4 (11,1 %) auf Bac. cereus var. mycoides, 4 (11,1 %) auf Bac. licheniformis, 4 (11,1 %) auf Bac. badius, 3 (8,3 %) auf Bac. pantothenticus, 2 (5,6 %) auf Bac. coagulans, 2 (5,6 %) auf Bac. firmus, 1 (2,8 %) auf Bac. lentus, 1 (2,8 %) auf Bac. circulans, 1 (2,8 %) auf Bac. pulvifaciens, 1 (2,8 %) auf Bac. sphaericus, 1 (2,8 %) auf Bac. pasteurii und 1 (2,8 %) auf Bac. cereus.

Bulle:

Von 23 Proben entfielen 4 (18,2 %) auf Bac. subtilis, 3 (13,6 %) auf Bac. cereus var. mycoides, 3 (13,6 %) auf Bac. licheniformis, 2 (9,1 %) auf Bac. thuringiensis, 2 (9,1 %) auf Bac. pumilus, 2 (9,1 %) auf Bac. sphaericus, 2 (9,1 %) auf Bac. pasteurii, 1 (4,5 %) auf Bac. cereus, 1 (4,5 %) auf Bac. badius, 1 (4,5 %) auf Bac. circulans, 1 (4,5 %) auf Bac. brevis und 1 (4,5 %) auf Bac. pantothenticus.

Übersicht über die Verteilung der differenzierten Bacillus-Spezies bei Wiederkäuern

Bacillus-	Rind		Kalb		Bulle	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
cereus	5	5,8	1	2,8	1	4,5
cereus var. mycoides	6	7,0	4	11,1	3	13,6
thuringiensis	10	11,6	5	13,9	2	9,1
licheniformis	7	8,1	4	11,1	3	13,6
subtilis	7	8,1	6	15,2	4	18,2
pumilus	4	4,6	-	-	2	9,1
coagulans	3	3,5	2	5,6	-	-
badius	5	5,8	4	11,1	1	4,5
firmus	4	4,6	2	5,6	-	-
lentus	1	1,2	1	2,8	-	-
polymyxa	2	2,3	-	-	-	-
circulans	2	2,3	1	2,8	1	4,5
laterosporus	3	3,5	-	-	-	-
pulvifaciens	1	1,2	1	2.8	-	-
brevis	-	-	-	-	1	4,5
pantothenticus	9	10,4	3	8,3	1	4,5
sphaericus	7	8,1	1	2,8	2	9,1
pasteurii	10	11,6	1	2,8	2	9,1
Summe:	86		37		23	

3. Verteilung der Bacillusspezies unter Berücksichtigung des Vorberichtes bzw. pathologisch-anatomischen Befundes

Rind	Bacillus-																	
Vorbericht	cereus	cereus var. mycoides	thuringiensis	licheniformis	subtilis	pumilus	coagulans	badius	firmus	lentus	polymyxa	circulans	laterosporus	pulvifaciens	brevis	pantothenticus	sphaericus	pasteurii
Lungenödem			1	1														
Lungenemphysem					1													
Enteritis		1	3		2		1					1				2	1	
Darminvagination	1																	
Tympanie		1	1					2	1								1	1
Pyometra					1													1
Metritis				1														
Torsio			1															1
Geburtsschaden			1		1			1										1
Wasserkalb																		1
Emphysematöse Frucht																	1	
Eihautwassersucht		1																
Pyometra Leberdegeneration																		1
Leberdegeneration						1	1		1								2	
Leberabszeß		1											1					1

Rind

(Fortsetzung)

Vorbericht	Bacillus- cereus	cereus var. mycoides	thuringiensis	licheniformis	subtilis	pumilus	coagulans	badius	firmus	lentus	polymyxa	circulans	laterosporus	pulvifaciens	brevis	pantothenticus	sphaericus	pasteurii
Lebertumor																1		
Hepatitis Nephritis								1										
Pyelonephritis																		1
Milzabszeß													1					
Myocarditis									1									
Herztod																		1
Peritonitis				1					1	1				1				1
Metritis, Pneumonie und Peritonitis																	1	
Mastitis, Hepatitis und Lungenemphysem				1														
Mastitis					1											1		
Fraktur	1	2		3	1						1					1		
Klauengeschwür									1		1							
Festliegen	4	2	2			1	1	1				1				3	1	1
Muskeldegeneration			1															
Blitzschlag			1															
Notschlachtung						2							1					

Kalb	Bacillus-																	
Vorbericht	cereus	cereus var. mycoides	thuringiensis	licheniformis	subtilis	pumilus	coagulans	badius	firmus	lentus	polymyxa	circulans	laterosporus	pulvifaciens	brevis	pantothenticus	sphaericus	pasteurii
Pneumonie				1			1							1				
Lungenödem				1														
Enteritis	1	2	2	1				1		1		1					1	
Tympanie			2		2				1							1		1
Leberdegeneration					3				1									
Leberabszeß					1													
Fleckniere		1														1		
Nabelentzündung								2										
Arthritis			1				1	1								1		
Festliegen				1														
Notschlachtung		1																

Bulle	Bacillus-														
Vorbericht	megaterium	cereus	cereus var. mycoides	thuringiensis	licheniformis	subtilis	pumilus	coagulans	badius	firmus	circulans	laterosporus	brevis	sphaericus	pasteurii	pantothenticus
Enteritis														1		
Tympanie		1	1	1		2	2		1					1		1
Pansenlähmung						1									1	
Peritonitis			1		1											
Fettleber											1					
FK-Peritonitis				1	1											
Pneumonie						1										
Tendovaginitis purulenta													1			
Arthritis					1											
Rachitis			1												1	

4. Vergleichende Betrachtung bezüglich der Verteilung der Bacillusspezies beim Rindergeschlecht:

Bac. cereus: Von den 7 isolierten Stämmen wurden 5 bei Rindern, je einer bei Bulle bzw. Kalb aufgefunden.

Bac. cereus var. mycoides: 6 Stämme davon wurden von Rindern, 4 von Kälbern und 3 von Bullen isoliert.

Bac. thuringiensis: 10 Stämme wurden bei Rindern, 5 bei Kälbern und 3 bei Bullen gefunden.

Bac. lichenisformis: Die 14 isolierten Stämme verteilten sich wie folgt: 7 bei Rindern, 4 bei Kälbern und 3 bei Bullen.

Bac. subtilis: Diese Spezies wurde aus je 7 Proben von Rindern, 6 von Kälbern und 4 von Bullen isoliert.

Bac. pumilus: Diese Spezies konnte bei Kälbern nicht gefunden werden. Von den 6 Stämmen stammten 4 von Rindern und 2 von Bullen.

Bac. coagulans: 3 Stämme traten bei Rindern und 2 bei Kälbern auf.

Bac. badius: Hier war eine prozentuale Häufung beim Kalb festzustellen. Von den 10 isolierten Stämmen stammten 5 von Rindern, 4 von Kälbern und eine vom Bullen.

Bac. firmus: 4 Stämme stammten von Rindern und 2 von Kälbern.

Bac. lentus: Diese Spezies konnte je einmal bei Rind und Kalb gefunden werden.

Bac. polymyxa: Die 2 isolierten Stämme entfielen beide auf Rinder.

Bac. circulans: Von den 4 gefundenen Stämmen entfielen 2 auf Rinder und je einer auf Kalb bzw. Bulle.

Bac. laterosporus: Diese Spezies fand sich nur bei Rindern (3 mal).

Bac. pulvifaciens: Dieser Keim konnte je einmal bei Rind und Kalb gefunden werden.

Bac. brevis: Diese Art konnte nur einmal bei einem Bullen isoliert werden.

Bac. pantothenticus: Von den 13 gefundenen Stämmen entfielen 9 auf Rinder, 3 auf Kälber und 1 auf Bullen.

Bac. sphaericus: Von den 10 isolierten Stämmen entfielen 7 auf Rinder, 2 auf Bullen und einer auf ein Kalb.

Bac. pasteurii: 10 von 13 Stämmen wurden bei Rindern gefunden, 2 bei Bullen und einer beim Kalb.

D. DISKUSSION UND BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Zur Identifizierung von 146 Bacillusstämmen wurde die von Kundrat (46) ausgearbeitete Methode herangezogen. Sie erwies sich, bis auf die Argininhydrolyse der Bac. subtilis-Stämme, welche entgegen seinen Angaben alle Arginin vergoren, als sicher, wie die eindeutige Differenzierung von 20 unbekannten Kontrollstämmen bewies. Sie beruhte auf biochemischen Testen und der mikroskopischen Einteilung. Letztere bereitete anfänglich Schwierigkeiten, da es nicht leicht war, über Vakuolisierung des Sporangiums bzw. dessen Auftreibung durch die Endspore zu entscheiden. Anhand dieses Differenzierungsschlüssels konnten 37 (25,4 %) Keime der morphologischen Gruppe Ia, 61 (41,8 %) der morphologischen Gruppe Ib, 12 (8,2 %) der morphologischen Gruppe II und 36 (24,6 %) der morphologischen Gruppe III zugeordnet werden.

Es wurden 18 verschiedene Bacillusarten differenziert. Von diesen machen die 5 am häufigsten gefundenen Stämme, nämlich Bac. thuringiensis, Bac.subtilis, Bac. licheniformis, Bac. cereus var. mycoides und Bac. pantothenticus mit 51,2 % mehr als die Hälfte aller diagnostizierten Stämme aus.

Beachtenswert ist, daß die Keime, die in der Literatur als Erreger unspezifischer Lebensmittelvergiftungen beschrieben werden, nämlich Bac. cereus mit seinen Varianten und die Vertreter der Bac. subtilis-Gruppe, 39,5 % der differenzierten Stämme ausmachen. Betrachtet man die Verteilung dieser Erreger auf die untersuchten Wiederkäuerarten, so entfallen auf Bullen 50,9 %, auf Kälber 40,2 % und auf Rinder 33,6 %.

Des weiteren ist die Häufigkeit von Bac. thuringiensis (17), der nach Bergey (9) nur in kranken Insekten vorkommt, und von Bac. badius, dessen natürliches Vorkommen ungewiß ist (Bergey (9)), bemerkenswert.

Von den 146 untersuchten Bacillusstämmen stammten 86 (58,9 %) von Rindern, 37 (25,4 %) von Kälbern und 23 (15,8 %) von Bullen. Ob es sich bei diesen Bacillus-Isolierungen um Keime von Septikämien oder teilweise nur um Schmutzinfektionen handelte, konnte nicht beurteilt werden. Aufgrund der ubiquitären Verbreitung der aeroben Sporenbildner, ist nicht auszuschließen, daß eine große Anzahl der Infektionen Sekundärinfektionen darstellten und daß diese Keime entweder während des Schlachtvorganges (vom Darm, durch Verschmutzung, von der Haut) oder post mortem (durch Staub, Schmutz, infizierte Schlachtgeräte, Verunreinigung während des Transportes) in die Or-

gane gelangten.

Ein Zusammenhang zwischen Bacillusbefund und Anamnese konnte bei pathologisch-anatomischen Veränderungen des Magen-Darm-Traktes gesehen werden. Da nach Ankersmit (1), Gruber (26), Fischer (18), Vogeler (103), Stregulina (99) und Ivanovics (37) aerobe Sporenbildner ständig im Verdauungstrakt der Wiederkäuer anzutreffen sind, ist es verständlich, daß bei Erkrankung dieses Organteils auch diese Keime in das Kreislaufsystem gelangen und im Organismus verbreitet werden. Dabei traten vor allem Keime der morphologischen Gruppe I, wie Bac. cereus, Bac. cereus var. mycoides, Bac. thuringiensis, Bac. licheniformis, Bac. subtilis und Bac. pumilus vermehrt auf. Die häufigsten Einzelbefunde waren Enteritis, Tympanie und Pansenlähmung.

Desweiteren wurde bei Rindern bei dem Vorbericht "Festliegen" vermehrt Keime der Bac. cereus-Gruppe und von Bac. pantothenticus, bei "Frakturen" der Bac. licheniformis und Bac. cereus mit seinen Varianten, bei "Notschlachtung" der Bac. pumilus festgestellt. Bei Kälbern ist das Vorkommen von Bac. subtilis in Übereinstimmung mit dem Vorbereicht "Leberdegeneration" und von Bac. badius bei "Nabelentzündungen" hervorzuheben.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung wurden 146 Bacillusstämme aus Organproben beim Rind isoliert, davon stammten 86 vom Rind, 37 vom Kalb und 23 vom Bullen. Zusätzlich wurden 20 unbekannte Kontrollstämme differenziert.

2. Unter 146 Stämmen konnten 18 verschiedene Arten gefunden werden, wobei Bac. subtilis und Bac. cereus var. thuringiensis mit je 11,8 % am häufigsten vertreten waren. Dann folgten Bac. licheniformis mit 9,7 %, Bac. cereus var. mycoides, Bac. pasteurii und Bac. pantothenticus zu je 9,0 %.

3. 39,5 % der differenzierten Stämme zählen zu den Erregern "unspezifischer" Lebensmittelvergiftungen.

4. Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes aber auch die Diagnosen "Festliegen" und "Fraktur" zeigten einen gesicherten Zusammenhang mit dem Auftreten von Bacillus ssp.

5. Die Differenzierung der Bacillus-Spezies umfaßte folgende Kriterien: Mikroskopische Beurteilung, Hydrolyse von Gelatine, Stärke, Kasein und Arginin, Wachstum bei 7 % und 10 % NaCl, Zitratvergärung, anaerobes Wachstum und Gasbildung in Glukosebouillon, Reaktion nach Voges-Proskauer und der Hemmung durch Sulfanilamid. Zusätzlich wurde die Reaktion in Lackmusmilch geprüft.

SUMMARY

1. Within the scope of the bacteriological meat inspections 146 kinds of bacilli were isolated from organ samples taken from cattle; 86 of which came from cows, 37 from calves and 23 from bulls. Moreover 20 unknown control cultures were differentiated.

2. 18 various kinds could be found among 146 tribes. Bac. subtilis and Bac. cereus var. thuringiensis being represented most frequently with 11,8 % each. After them followed Bac. licheniformis with 9,7 %, Bac. cereus var. mycoides, Bac. pasteurii and Bac. pantothenticus with 9,0 % each.

3. 39,5 % of the differentiated cultures are described in literature as producers of "unspecific" foodpoisoning.

4. There was found a connection between particular disease of the gastro-intestinal-tract and the appearance of bacilli, in the same way this was apparent in the diagnoses "immobility" and "fracture".

5. The differentiation of the species of Bacillus includes the following criteria: microscopic examination, hydrolysis of gelatin, starch, casein and arginin, growth with 7 % and 10 % NaCl, fermentation of citrate, anaerobic growth and the development of gas in glucose broth, reaction according to Voges-Proskauer and the inhibition of growth by sulfanilamides. Additionally the reaction in litmus milk was tested.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1 Ankersmit, P.: Untersuchungen über die Bakterien im Verdauungskanal des Rindes. Zbl. Bakt. I Orig. 39 (1905), 359, 369, 574-584, 687-695; und 40 (1906), 100-118;

2 Amako, -.: Untersuchungen über das Conradische Ölbad und den Bakteriengehalt der Organe besunder Tiere (Ein Beitrag zur Pathogenese der Fleischvergiftungen). Zschr. Hyg. 66 (1910), 166;

3 Baumgart, J.: Konserven und bakterielle Lebensmittelvergiftungen. Die Feinkost 6. Jahrg. (1969), 330;

4 Berger, W.: Biochemische Eigenschaften die zur Identifizierung von Bacillus megaterium ausschlaggebend sind. Path. Mikrobiol. 25 (1962), 873;

5 Bierotte, und -. Machida: Untersuchungen über den Keimgehalt normaler Organe. Münch. med. Wschr. 47 (1910), 636;

6 Boese, W.: Studien über den Bacillus mesentericus. Erg. Hyg. 29 (1955), 39-83;

7 Boyette, D. F., F. L. Rights und W. H. Keiters: Über Meningitis bei einem Kinde, hervorgerufen durch einen ungewöhnlichen aeroben sporenbildenden Bacillus. Zbl. Bakt. I Ref. 151 (1953-54), 540;

8 Breed, R. S., E. G. D. Murray und A. P. Hitchens: Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 6th ed. Baltimore 1948;

9 Breed, R. S., E. G. D. Murray und N. R. Smith: Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 7th ed. Baltimore 1957;

10 Brekenfeld, H.: Lebensmittelbakteriologie und Vergiftungen. Zbl. Bakt. I Orig. 99 (1926), 353;

11 Brozat, J.: Untersuchungen über die Voraussetzungen für die Abtötung von Sporen aerober Bacillen, insbesondere der Mesentericus-Subtilis-Gruppe, durch Einwirkung von UV-Strahlen. Vet. Diss. Hannover 1955;

12 Burdon, K.L. und J. C. Stokes: Studies of the common aerobic sporeforming bacilli. J. Bact. 43 (1942), 717;

13 Burdon, K.L.: Usefull criteria for the identification of Bacillus anthracis and related species. J. Bact. 71 (1956), 25-42;

14 Bushnell, C.D.: Influence of Vacuum upon growth of some aerobic-sporebearing bacteria. J. Bact. 7 (1922), 283-300;

15 Cameron, E. J. und J.R. Esty: Comments on the microbiology of spoilage in canned foods. Food Res. 5 (1940), 549-557;

16 Conradi, -.: Eine neue Methode der praktischen Fleischbeschau. Zschr. Fleisch-Milchhyg. 19 (1909), 341;

17 Coretti, K.: Reifungsprozeß und Trocknungsfehler bei Rohwürsten. Fleischwirtsch. 5 (1953), 160;

18 Fischer, A.: Untersuchungen über die Darmflora beim gesunden Ochsen. Zbl. Bakt. I Orig. 77 (1916), 6;

19 Fievéz, L.: Neuere Erfahrungen mit der Abtötung bzw. Keimhemmung der Sporen aerober Bacillen durch UV-Strahlen. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 61;

20	Flügge, C.:	Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge. Zschr.Hyg. 17 (1894), 272-342;
21	Frank, H.A.:	Faktoren die die bakteriologische Zersetzung vom Tier stammender Lebensmittel bei erhöhten Temperaturen beeinflussen. Zbl.Bact. I Ref. 199 (1965), 208;
22	Gibson, T. und Y.Abd-el-Malek:	The formation of carbon dioxide by lactic acid bacteria and bacillus lichenformis and a cultural method of detecting the process. J.Dairy. Res. 14 (1945), 35;
23	Globig, -.:	Über einen Kartoffelbacillus mit ungewöhnlich widerstandsfähigen Sporen. Zschr.Hyg. 3 (1888), 322-332;
24	Gordon, R.E. und N.R. Smith:	Aerobic-sporeforming bacteria capable of growth at high temperatures. J.Bact. 58 (1949), 327;
25	Gottschlich, -.:	Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle, Kraus, Uhlenhut. Verlag Gustav Fischer, Jena, 1913, Bd.1 S.132;
26	Gruber, T.:	Die Bakterienflora von Runkelrüben, Steckrüben, von Milch während der Stallfütterung und des Weideganges einschließlich der Heu, Gras und Kot vorkommenden Mikroorganismen und deren Mengenverhältnisse in den letzten viel Medien. Zbl.Bact. II Orig. 22(1909), 402;
27	Grunt, O.:	Beitrag zur Frage des physiologischen Vorkommens von Bakterien im Fleisch gesunder Schlachtrinder. Zschr.Fleisch-Milchhyg. 2 (1913), 193-207;
28	Hadlock, R.:	Über die Resistenz nativer Sporen aerober Sporenbildner bei verschiedenen Temperaturen. Diss.med.vet. Hannover 1957;

29 Hauge, S.: Food-poisoning caused by aerobe sporeforming bacilli.
J. appl. Bact. 18 (1958), 591;

30 Hauke, H.: Über die Bedeutung der aeroben Sporenbildner für die Lebensmittelhygiene.
Lebensmittelhyg. 12 (1961), 287;

31 Herter, R.: Zur Ausführung und Auswertung der bakteriologischen Fleischuntersuchungen.
Lebensmitteltierarzt 4 (1953), 245-248;

32 Hoffmann, H.: Untersuchungen über die Mikrobiologie der Kohlen und ihrer natürlichen Lagerstätten.
Brennstoffchemie 9 (1928), 174, 282;

33 Housten, A.C.: Mitteilungen über die chemische und bakteriologische Untersuchung von Bodenproben mit Rücksicht auf Menge und Beschaffenheit der organischen Substanzen und auf die Zahl und Art der in ihnen enthaltenden Bakterien.
Zbl. Bakt. I 25 (1899), 773;

34 Horowitz - Wlassowa: Zur Biochemie der Bakterien.
Ref. Zbl. Bakt. I Ref. 44 (1908), 9;

35 Hüttmann, H.: Untersuchungen über den Keimgehalt der in Deutschland üblichen Gewürze und seine Beziehung zur Entstehung von Fehlfabrikaten.
Diss. med. vet. Hannover 1954, 27-28;

36 Iyer V. und J.V. Bhat: Observation on the taxonomy of the genus Bacillus.
Archiv f. Mikrob. 23 (1955), 88-97;

37 Ivanovics, G.: Beiträge zur Systematik und Antigenstruktur der aeroben, mesophilen sporentragenden Mikroben.
Zbl. Bakt. Orig. 159 (1952), 178-187;

38 Kayser, B.: Ein Beitrag zur Frage der pathogenität des Bacillus subtilis für das Auge.
Zbl. Bakt. I Orig. (1903), 241;

39	Keller, H.:	Bakterielle Veränderungen an Würsten. Fleischwirtschaft 5 (1953), 168;
40	Kelch, F.:	Bakteriologische Untersuchungen über den Keimbefall der Oberfläche von Dosenschinken im Verlauf des Herstellungsganges. Lebensmitteltierarzt 2 (1954), 25;
41	Kelch, F.:	Die Bakterienflora in fleisch- und fleischverarbeitenden Betrieben. Fleischwirtschaft 7 (1955), 67-69;
42	Knight, B.C.J.G., und H. Proom:	A comparative survey of the nutrition an physiology of mesophylic species in genus Bacillus. J. gen. Mikrob. 4 (1950), 508-538;
43	Konrich, F.:	Die bakterielle Keimtötung durch Wärme. Verlag Ferdinand Enke, Stuttgart, 1938, 38;
44	Koser, S.A.:	zit. n. Hallmann, L. Bakteriologische Nährböden. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953;
45	Kraus, H.:	Über die Ursachen der Laketrübung und der leichten bakteriologischen Zersetzung von Dosenwürstchen ohne Bombageerscheinung. Arch. Lebensmittelhyg. 10 (1959), 221;
46	Kundrat, W.:	Zur Differenzierung aerober Sporenbildner. Zbl. Vet.-Med. (B) 10 (1963), 418-426;
47	Laffargue, - und Amdrieu, -:	Le rôle du bacillus mesentericus et de quelques autres microbes sporulés dans la nuisance du lait. Zbl. Bakt. I Ref. 122 (1936), 336;
48	Lázár, J. und L. Jurcsák:	Daten zur Pathogenität des Bacillus cereus. Zbl. Bakt. I Orig. 199 (1966), 59;
49	Lehmann, K.B. und R.O. Neumann:	Bakteriologie, insbesondere bakteriologische Diagnostik, II Bd. Allgem. u. spezielle Bakteriologie. München 1927, 586-621, J.F. Lehmanns-Verlag;

50	Lerche, M.:	Bombagen in Dosenfleischwaren. Fleischwirtschaft 21 (1941), 1-7;
51	Lerche, M, V. Goerttler und H. Rievel:	Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. 3. Aufl. Verlag M. u. H. Schaper, Hannover, 1957, 122;
52	Lieske, R.:	Referat zu Thorpe, H. Petroleumbakterien und die Ernährung von Psilopa petrolei. Nature 30 (1933), 347;
53	Lochmann, E.H.:	Untersuchungen über die Resistenz der Bacillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe gegen verschiedene p_H-Werte. Lebensmitteltierarzt 6 (1955), 279;
54	Lodenkämper, H.:	Zur Pathogenese der menschlichen Lebensmittelvergiftungen, insbesondere zur Frage nach der Bildung von Thermostabilen Giften durch Erreger von Gastroenteritiden. Zbl. ges. inn. Med. 4 (1949), 9;
55	Lubenau, C.:	Bacillus peptonificans als Erreger einer Gastroenteritis. Zbl. Bakt. I 40 (1906), 433;
56	Makai, -.:	Bakteriologische Befunde bei akuten Bindehauterkrankungen anhand von 100 Fällen. Zbl. Bakt. I Ref. 42 (1909), 670;
57	Markoff, -.:	Zum Problem der Seefischfäulnis. Zbl. Bakt. II Orig. 101 (1939), 151;
58	Milbradt, W.H.:	Bei der Herstellung von Dauerwaren (Wurst usw.) durch nicht fachgemäße Behandlung aufgetretene Schäden und ihre bakteriellen Ursachen. Diss. med. vet. Hannover 1936, 102-103;
59	Moser, L.:	Über bakterielle Lebensmittelvergiftungen. Dtsch. med. Wschr. 78 (1953), 1762-1765;

60 Mumme, G.: Über die bakterielle Nahrungsmittelvergiftung. Med. Klin. 50 (1955), 3, 125;

61 Nikodémusz, J.: Über einen Elektivnährboden, der zur Isolierung von Bacillus cereus aus Mischflora geeignet ist. Lebensmittelhyg. 13 (1962), 56;

62 Nikodémusz, J., S. Bodnar: Aerobe Sporenbildner als Lebensmittelvergifter. Zbl. Bakt. I, 184 (1962), 462;

63 Nikodémusz, J., Bojan und Hoch und Kiss: Das Vorkommen von Bacillus cereus in Lebensmitteln. Archiv Lebensmittelhy. 14 (1963) 172;

64 Nikodémusz, J. und K. Csaba: Zur Bedeutung der aeroben Sporenbildner bei Lebensmittelvergiftungen. Lebensmittelhyg. 11 (1960), 16;

65 Nikodémusz, J. und Gy. Gonda: Die Wirkung langfristiger Verabreichung von Bac. cereus verunreinigten Lebensmittel bei Katzen. Zbl. Bakt. I Orig. 199 (1966), 64;

66 Oesterle, G.: Beitrag zur Pathogenität der aeroben Sporenbildner in der Augenheilkunde. Klin. Abt. Augenhk. 120 (1952), 246-254;

67 v. Ostertag, R. und F. Schönberg: Lehrbuch der Schlachttier- und Fleischuntersuchung. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1955, 650 - 770;

68 Preuner, R. J. v. Prittwitz und A. Tronnier: Untersuchungen zur Feinstruktur ruhender Bacillensporen. Z. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 138 (1954), 309-319;

69 Proom, H. und B. C. J. G. Knight: Bacillus pantothenticus. Gen. Microbiol. 4 (1950), 539-541;

70 Reploh, H. und H. J. Otte: Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie und Infektionskrankheiten. 1965, 329 Gustav Fischer Verlag Stuttgart;

71	Resse, H., J. Vaughn, H. Kreulevitch und W.A. Mercer:	Spoilage of canned foods caused by the bacillus macerans-polymyxa group of bacteria. Food Res. 17 (1952), 560 - 570;
72	Rievel, H.:	Bittere Milch durch Bac. subtilis. Zschr. Fleisch-Milchhyg. 25 (1915), 161;
73	Rievel, H.:	Die Sporenverbreitung in Betrieben. Fleischwirtschaft 22 (1942), 116 - 120;
74	Rippel-Baldes, A.:	Grundriß der Mikrobiologie. 3. Aufl. Springer-Verlag, Berlin 1955;
75	Rugge, und Kießig:	Über den Keimgehalt der Muskulatur gewerbsmäßig geschlachteter normaler Rinder. Zschr. Fleisch-Milchhyg. 22 (1912), 69 - 80;
76	Rugge, , und Kießig:	Weitere Untersuchungen über den Keimgehalt der Muskulatur normaler Schlachttiere. Zschr. Fleisch-Milchhyg. 30 (1920), 17, 34, 38, 53, 57;
77	Schauser, K.H.:	Über den Keimgehalt der Schweinhehaut von der Schlachtung bis zum Abhängen der Tierkörper. Diss. med. vet. 1957, 36 - 38;
78	Schilling, H.:	Beiträge zur Verderbnis hausgeschlachteter Fleisch-Dauerwaren. Diss. med. vet. Gießen, 1954;
79	Schilling, H.:	Zur Entstehung und Verhütung sogenannter unspezifischer bakterieller Lebensmittelvergiftungen, insbesondere von Fäulnistoxikationen. Tierärztl. Umschau 4 (1949), 149-151;
80	Schilling, H.:	Über die Bedeutung bakterieller Gewürze für das Verderben von Wurstwaren und Fleischkonserven und zur Keimverminderung in Gewürzen durch UV-Entkeimungslampen. Fleischwirtschaft 4 (1952), 132-133;

81 Schönberg, F.: Über die wichtigsten Voraussetzungen für die Erzielung einwandfreier, schmackhafter Rohwurst, insbesondere Dauerwurst. Fleischwirtschaft 4 (1952), 49 - 52;

82 Schönberg, F.: Gewürze als Ursache des Schleimigwerdens-Fadenziehens in Leberwurst (Befall mit Bac. mesentericus viscosus). Lebensmitteltierarzt 4 (1953), 14, 160;

83 Schönberg, F.: Die Bedeutung schwer abtötbarer Mikroorganismen, insbesondere aerober Sporenbildner für die Fleisch-, Fisch- und Milchwirtschaft und Vorschläge zu ihrer wirksamen Bekämpfung. Dtsch. tierärztl. Wschr. 60 (1953), 351;

84 Schönberg, F.: Die Ursachen von Fehlfabrikaten bei Rohwurstsorten (Zervelatwurst, Salami, Mettwurst, Plockwurst) unter besonderer Berücksichtigung der Trocknungsfehler. Fleischwirtschaft 5 (1953), 155 - 157;

85 Schönberg, F.: Über die Bedeutung der Behandlung der Schlachtschweine (Brühen, Entborsten, Oberflächenreinigung) kurz nach der Schlachtung für den Bakterienbefall des Fleisches und der Haut unter besonderer Berücksichtigung der Erzeugung möglichst keimarmer Schinken für den Export. Fleischwirtschaft 5 (1953), 31 - 32;

86 Schönberg, F.: Sommerliche Temperaturen und Temperaturschwankungen in ihrer Bedeutung für das Auftreten von Fehlfabrikaten bei Rohwürsten, Schinken und Fleischkonserven. Fleischwirtschaft 5 (1953), 205-206;

87 Schönberg, F.: UV-Entkeimungslampen in fleischverarbeitenden Betrieben. Fleischwirtschaft 6 (1954), 117 - 121;

88 Schönberg, F.: Beißigkeit von Mettwürsten. Lebensmitteltierarzt 4 (1953), 89, 107;

89 Schönberg, F.: Über die partielle Erweichung von Dosenwürstchen ohne Bombageerscheinungen. Arch. Lebensmittelhy. 6 (1955), 273 - 276;

90 Schönberg, F. und R. Könekamp: Zur Temperaturabhängigkeit der von aeroben Bacillen, insbesondere von Bacillus cereus und Bacillus subtilis, verursachten Proteolyse in Fleisch, Fleischwaren, Fischwaren und Milch. Zugleich ein Beitrag zur Entstehung der sogenannten unspezifischen Lebensmittelvergiftungen (Fäulnisintoxikationen). Lebensmittelhy. 13 (1962), 58;

91 Schönberg, F. und E. Walz: Der Einfluß von Temperatur und Kochsalz auf die Bacillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe und seine Beziehung zur Entstehung der Beißigkeit und Kernfäulnis bei den Rohwurstsorten. Fleischwirtschaft 5 (1954), 33-35;

92 Seligmann, E.: Zur Bakteriologie des fadenziehendes Brotes. Zbl. Bakt. Orig. 83 (1919), 39 - 50;

93 Sens, H. und E. Kauker: Zur Verderbnis bei Fleischwaren ohne die Erscheinung der Bombage. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 25;

94 Seidel, G.: Die aeroben Sporenbildner in der täglichen Praxis der bakteriologischen Untersuchung der vom Tiere stammenden Lebensmittel. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 181;

95 Seidel, G.: Über unspezifische Lebensmittelvergiftungen. Arch. Lebensmittelhyg. 8 (1957), 10, 219;

96 Shukla, J.S. und V.N. Jyer: Aerobic sporeforming bacilli showing the phenomenon of colony migration. Archiv f. Mikrob. 39 (1961), 298 - 312;

97 Smith, N.R., R.E. Gordon und F.E. Clark: Aerobic sporeforming bacteria. US Agricult. Monogr. 16 (1952);

98 Summermatter, P.: Massenerweichung der Wursthüllen bei Bratwürsten in Dosen durch Bacillus subtilis. Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 227

99 Stregulina, A.: Über die im Züricher Boden vorkommenden Heubacillen und über deren Beziehung zu den Erregern der Panophthalmie nach Hackensplitterverletzungen. Zschr. Hyg. 51 (1905), 19-44;

100 Terplan, G.: Saprophyten als Mastitiserreger. Arch. Lebensmittelhyg. 8 (1957), 37 - 38;

101 Topley, W.C., und A.A. Miles: Principles of bacteriology and immunity. (Topley und Wilson) Third edition Vol I, II 1946, London, Arnold u. Co;

102 Velde, v.d.: Kurze Bemerkungen zur ätiologischen Diagnostik, zur Prognostik und Therapie bei puerperaler Septämie. Gynäk. Rsch. 3 (1909), 656;

103 Vogeler, L.: Über sporenbildende Bakterien im Darmkot des gesunden Rindes unter der Berücksichtigung ihrer Bedeutung für die Milchwirtschaft. Milchwirtschaftl. Forschg. 10 (1930), 180 - 227;

104 Walz, E.: Über den Keimgehalt der Hautoberfläche von Schlachtschweinen kurz nach der Schlachtung. Lebensmitteltierarzt 4 (1953), 115-118;

105 Walz, E.: Beitrag zum Fadenziehen der Wurst. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 157 - 159;

106 Walz, E.: Kernzersetzung in Rohwurst mit starker Gasbildung infolge unsachgemäßer Abräucherung. Lebensmitteltierarzt 5 (1954), 22 - 23;

107 Walz, E.: Rohwurstfehlfabrikate durch Schwitzrauch nehmen nicht ab. Arch. Lebensmittelhyg. 6 (1955), 124 - 125;

108	Walz, E.:	Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner für die Fleischwirtschaft, insbesondere für Dauerwaren, Halbkonserven und Rohwürste. Habilitationsschrift Hannover 1957;
109	Walz, E.:	Die Einwirkung aerober Sporenbildner auf den Muskelfarbstoff. Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 200;
110	Walz, E.:	Über die eignung eines Kartoffelagars für die bakteriologische Untersuchung von Fleischwaren und Gewürzen auf aerobe Sporenbildner. Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 36;
111	Wellhäuser, K.H.:	Die antibiotischen Beziehungen einer natürlichen Mikroflore im Kiefernwaldboden. Arch. Mikrobiol. 16 (1951), 201 - 236;
112	Werner, P. und J. Zubzycki:	Bericht über bakteriologische Untersuchungen bei 200 Fällen von Fieber nach der Geburt. Ztschr. Geburtsh. 75 (1914), 519;
113	Westphal, W.:	Zum Keimgehalt gesalzener Därme. Ztschr. Fleisch-Milchhyg. 53 (1943), 102-107;
114	Wirtz, R.:	Eine einfache Art der Sporenfärbung. Zbl. Bakt. I Orig. 46 (1908), 727;
115	Wiidik, R.:	Ein Beitrag zur Kenntnis der Fleisch- und Fischdauerwaren zersetzenden Keime der Mesentericus-Subtilis-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der Abtötung ihrer Sporen in Reindampf von 120°C. BMTW (1937), 729 - 733;
116	Zeller, M.:	Über die Bedeutung aerober Sporenbildner als Bombageerreger. Arch. Lebensmittelhyg. 14 (1963), 104;
117	Zwick, - und -. Weichel:	Zur Frage des Vorkommens von Bakterien im Fleisch normaler Schlachttiere und zur Technik der bakteriologischen Fleischbeschau bei Notschlachtungen. Arb. Ksl. Gesundh.-Amt 38 (1922), 327.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. L. Kotter für die freundliche Überlassung des Themas herzlich zu danken.

Mein besonderer Dank gilt ferner Herrn Dr. W. Kundrat und Fräulein A. Faber für den stets gewährten Rat und die mir zuteil gewordene Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 5. November 1943 wurde ich, Karl Heinrich Heizer, als einziges Kind des Ingenieurs Karl Heizer und seiner Ehefrau Rosa, geborene Pfanzelt, in Erding geboren. Von September 1949 bis Juli 1954 besuchte ich die Volksschule in Langengeisling bei Erding. Anschließend wechselte ich in die Oberrealschule in Pfarrkirchen und am 22. Juli 1964 legte ich die Reifeprüfung an der Ludwig-Thoma-Oberrealschule in Prien am Chiemsee ab. Im November 1964 begann ich in München das Studium der Tiermedizin, das ich im Mai 1969 mit dem Staatsexamen an derselben Universität abschloß. Zur Zeit bin ich als Praxisvertreter tätig.